Ueber den

Nachweis von Zucker im Harn.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen medicinischen Facultät zu Erlangen

vorgelegt

von

Leonhard Mayer,

cand. med.

aus Neu-Ulm.

ERLANGEN.

Druck der Universitäts-Buchdruckerei von Junge & Sohn.

1886.

Ueber den

Nachweis von Zucker im Harn.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

hohen medicinischen Facultät zu Erlangen

vorgelegt

von

Leonhard Mayer,
cand. med.
aus Neu-Ulm.

ERLANGEN.
Druck der Universitäts-Buchdruckerei von Junge & Sohn.
1886.

Gedruckt mit Bewilligung der medicinischen Fakultät zu Erlangen.

Referent: Professor Penzoldt.

Die folgenden Untersuchungen sind auf Anlass und mit freundlicher Unterstützung des Herrn Professor Dr. Fleischer im Laboratorium der medicinischen Klinik dahier ausgeführt worden.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546420_0133

Ueber den Nachweis von Zucker im Harn.

Für den Nachweis von Zucker im Harn sind bisher eine grosse Anzahl verschiedener Proben angegeben worden, welche zum Theil leicht von jedem Praktiker ausgeführt werden können und desshalb vielfach benutzt worden sind. Ein Theil dieser Proben basirt auf der Eigenschaft des Traubenzuckers, in alkalischer Lösung Oxyde einzelner Metalle zu reduciren. Man bezeichnet sie desshalb auch kurzweg als Reduktionsproben. So werden z. B. bei der von Trommer angegebenen Probe, zum Harn, den man auf Zucker untersuchen will, Kalilauge und einige Tropfen einer wässerigen Lösung von Cuprum sulfuricum gesetzt und der Harn erwärmt. Es scheidet sich bei Gegenwart von Zucker schon bei einer Temperatur von 80° rothes oder gelbes Kupferoxydul aus. In der neueren Zeit ist diese Probe noch verschärft worden, indem vorgeschlagen worden ist, den zu untersuchenden Harn mit Kohle zu entfärben; denn je weniger gefärbt die zu prüfende Flüssigkeit ist, desto sicherer und deutlicher tritt die Reaktion ein.

Andere Proben, wie die von Böttcher und Mulder angegebenen, sind ebenfalls Reduktionsproben.

Dagegen ist die von Moore empfohlene Probe, nämlich den Harn mit Kalilauge zu versetzen, zu kochen und

aus der Braunfärbung desselben auf die Gegenwart von Zucker zu schliessen, eine gute, weil sie wirklich nur bei Gegenwart von Zucker ein positives Resultat liefert. Von Penzoldt ist aber darauf hingewiesen worden, dass diese sonst so sichere Probe keine scharfe ist und dass geringe Mengen Zuckers im Harn bei Anstellung derselben dem Nachweis entgehen. Auch wir konnten durch daraufhin gerichtete Versuche diese Angaben vollständig bestätigen, wobei es sich zeigte, dass bei einem Zuckergehalt von 0,5% die Probe bereits kaum noch deutlich ist, unter 0,5% ein negatives Resultat ergibt. Bezüglich der Verwerthung der reducirenden Eigenschaften eines Harnes ist nun darauf hinzuweissen, dass in neuerer Zeit Beobachtungen mitgetheilt worden sind, aus denen hervorgeht, dass mit dem Harne eine reichliche Anzahl verschiedener chemischer Körper ausgeschieden werden können, welche jedenfalls reducirende Eigenschaften zeigen.

Es ist seiner Zeit von Fürbringer, Fleischer, Ebstein und Müller beobachtet worden, dass Brenzcatechin, das ebenfalls stark reducirende Eigenschaften besitzt, im Harn auftreten könne; ferner ist von Ewald darauf hingewiesen worden, dass bei der Nitrobenzolvergiftung der Harn reducirende Substanzen enthält, welche nach Mering nichts mit Zucker zu thun haben, da sie das polarisirte Licht links drehen und nicht gähren. Wir bemerken ferner sehr häufig, dass der Harn, besonders wenn er concentrirt ist, bei längerem Kochen mit schwefelsaurem Kupfer und Kalilauge durch ausgeschiedenes gelbes Kupferoxydul manchmal schon in der Wärme, häufiger aber in der Kälte gelb gefärbt wird, ohne dass bei der Gährungsprobe oder bei der Untersuchung mit den optischen Apparaten die Gegenwart von Zucker zu constatiren wäre. Auch der Urin, welcher nach der Chloroformnarkose entleert wird, zeigt, wie wir dies durch

neuerdings darauf gerichtete Untersuchungen bestätigen konnten, nicht selten reducirende Eigenschaften, ohne dass letztere durch die Anwesenheit von Zucker bedingt sind. Wir dürfen desshalb den Reduktionsproben nicht die Wichtigkeit zuschreiben, welche denselben vielfach beigelegt worden ist und müssen, wenn die Probe ein positives Resultat ergeben hat, immer noch den Beweis erbringen, dass die Reduktion wirklich durch Zucker veranlasst wurde. Finden wir dagegen, dass der Harn keine reducirende Eigenschaften hat, so kann die Gegenwart von Zucker ausgeschlossen werden.

Aus den angegebenen Gründen wäre es sehr zu wünschen, eine leicht zu handhabende Methode zu besitzen, welche auch chemisch mit Leichtigkeit, Sicherheit und einer gewissen Schärfe jenen Nachweis zn liefern vermöchte und die der Praktiker benutzen könnte, um eine Melliturie sicher zu entdecken.

Die dafür ganz besonders geeignete Probe von Penzoldt (Diazobenzosulfosäure) ist leider vorläufig wegen der leichten Explosibilität der betreffenden Substanz nur mit grosser Vorsicht durchzuführen.

Diejenigen Proben, welche mit absoluter Sicherheit Zucker im Harn nachzuweisen gestatten, sind die Gährungsprobe und die optischen Methoden.

Erstere beruht auf der Zersetzungsfähigkeit des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure durch Hefe.

Zur Ausführung der optischen Proben braucht man optische Apparate, welche wegen ihrer Kostspieligkeit dem praktischen Arzte nicht so leicht zu Gebote stehen.

Die Gährungsprobe gibt für den qualitativen Nachweis des Zuckers unzweifelhaft sichere Resultate, wie dieses schon von Penzoldt[1]) besonders hervorgehoben

1) Aeltere und neuere Harnproben von Prof. Dr. Penzoldt, 2. Aufl. 1886.

worden ist. Für die quantitative Bestimmung des Zuckers (quantitative Bestimmung der gebildeten Kohlensäure) ist sie kaum zu verwenden, da bei reichlichem Zuckergehalt grössere Mengen des gebildeten Alkohols die Lebensfähigkeit der Hefe beeinträchtigen und so die vollständige Zersetzung des Harnzuckers hindern.

Für den praktischen Arzt sind jene Gährungsproben immerhin mit einer gewissen Umständlichkeit des Verfahrens verknüpft, da die Hefe immer erst durch eine Controllprobe auf ihre Lebensfähigkeit geprüft werden und fernerhin durch eine weitere Probe nachgewiesen werden muss, dass sie nicht in sich selbst gährt und dadurch ein falsches Resultat vorgetäuscht wird.

Aus diesen Gründen musste es mit grosser Freude begrüsst werden, dass neuerdings von Dr. Molisch, Privatdocent der Botanik in Wien, angeblich ausserordentlich sichere Proben zum Nachweis von Zucker im Harn empfohlen wurden. Dieselben sind gelegentlich mikrochemischer Untersuchungen im physiologischen Institut der Wiener Universität gefunden worden.

I. Zuckerreaktion mit α-Naphtol und Schwefelsäure.

Versetzt man eine Zuckerlösung mit den oben genannten Stoffen, so nimmt dieselbe eine tief violette Färbung an mit einem Stich ins Purpurne, wenn man in folgender Weise verfährt:

Eine kleine Probe c. $^1/_2$—1 ccm. der zu prüfenden Flüssigkeit wird im Reagensglas mit 2 Tropfen einer 15—20% alkoholischen α-Naphtollösung versetzt und geschüttelt; dabei trübt sich die Flüssigkeit etwas, da ein wenig Naphtol ausfällt. Giesst man darauf concentrirte Schwefelsäure im Ueberschuss ebensoviel oder doppelt so viel als Flüssigkeit vorhanden ist und schüttelt rasch,

so nimmt die Probe bei Gegenwart von Zucker momentan die angegebene Färbung an. Nachherige Verdünnung mit Wasser veranlasst die Abscheidung eines blauvioletten Niederschlags, der sich in Alkohol, Aether mit gelblicher, in Kalilauge mit goldgelber Farbe auflöst und in Ammoniak zu gelblich-braunen Tröpfchen zerfliesst. Die Reaktion wird erhalten mit Rohrzucker, Trauben-, Milch-, Fruchtzucker und Maltose, dagegen nicht mit z. B. Inosit, Mannit, Quercit.

Da Kohlenhydrate und Glykoside mit Schwefelsäure behandelt fast momentan in Zucker übergehen, so geben diese Körper gleichfalls die Reaktion entweder gleich oder nach kurzer Zeit.

Erhält man also in irgend einer Flüssigkeit jene Violettfärbung, so muss nach der Annahme von Molisch daraus geschlossen werden, dass entweder Zucker oder ein Körper in der Flüssigkeit vorhanden ist, der unter der Einwirkung von Schwefelsäure Zucker lieferte. Molisch macht noch besonders darauf aufmerksam, dass Indican, welches bekanntlich im normalen Harne vorkommt, in grösserer Menge aber bei bestimmten Krankheiten gefunden wird, die Reaktion nicht gebe. Fernerhin wurde von Molisch geprüft, ob andere organische Körper ebenfalls die Reaktion geben, z. B. Fette, Kohlenwasserstoffe, verschiedene Derivate des Benzols, Oele, Alkaloide, Eiweisskörper und Amidverbindungen, organische Säuren und Alkohole; jedesmal mit negativem Resultat. An Empfindlichkeit soll die Reaktion die Trommer'sche und Fehling'sche Probe bei weitem übertreffen und will der Verfasser bequem 0,00001% Zucker damit haben nachweisen können.

II. Zuckerreaktion mit Thymol und Schwefelsäure.

Eine kleine Probe einer Zuckerlösung mit 2 Tropfen einer alkoholischen 15—20% Thymollösung und überschüssiger conc. Schwefelsäure versetzt, färbt sich beim Schütteln momentan tief zinnober-rubin-karminroth. Mit Wasser sodann verdünnt, fällt ein ebenso gefärbter flockiger Niederschlag aus, der sich in Kalilauge, Alkohol, Aether mit schwachgelblicher Farbe löst, mit Ammoniak aber gelb wird. Auch Thymol gibt die Reaktion nicht blos mit den Zuckerarten, sondern indirekt mit Kohlehydraten und Glykosiden, und stimmt auch sonst mit der Naphtollösung überein.

Die Empfindlichkeit beider Reaktionen ist gleich. Neben Thymol geben noch andere Körper der aromatischen Reihe, wie dieses übrigens schon vor einer Reihe von Jahren von A. v. Bayer gefunden worden ist: Phenol, Benzol braunrothe, bei nachherigem Zusatz von Wasser rothviolette; Besorcin, Brenzcatechin granatrothe, Benzoesäure und Phloroglucin braune Färbung. Doch sind diese Reaktionen nicht so empfindlich, wie die mit Thymol und Naphtol.

Verwendet man bei den Reaktionen statt Schwefelsäure Salzsäure, so erhält man beim Kochen fast dieselben Färbungen.

Diese Reaktionen wurden nun auch von Molisch zum Nachweis des Zuckers im normalen, menschlichen Harn und im diabetischen Harn benutzt. — Er weist darauf hin, dass seiner Zeit Brücke beobachtet haben soll, dass der Zucker ein normaler Bestandtheil des menschlichen Harns sei. — Darnach beruht nach Brücke der Diabetes mellitus nur auf einer Steigerung des bereits im normalen Harn vorhandenen Zuckers.

Gegen diese Annahme sind bekanntlich von ver-

schiedenen Autoren auf sorgfältige Untersuchungen sich stützende Bedenken erhoben worden.

Nach der Annahme von Molisch beruht die Differenz in den Anschauungen nur darauf, dass die bisher angewandten Zuckerreaktionen noch nicht den Grad der Exaktheit aufzuweisen hatten, welche man von einer sicheren und scharfen Reaktion fordern soll.

Bei der Untersuchung des normalen menschlichen Harns gelang sowohl die Probe mit Naphtol als mit Thymol auf das schönste, und zwar wurde jedesmal in dem Harn von vollkommen gesunden Personen dasselbe Resultat erzielt; ja es zeigte sich sogar, dass der normale Harn auf das 100—300fache seines Volumens mit Wasser verdünnt noch immer erkennbare Reaktionen gibt; erst bei 400facher Verdünnung soll die Reaktion ausbleiben.

Bei so verdünnten Harn- und Zuckerlösungen gelingen aber die Reaktionen nur dann, wenn statt der Naphtollösung zu jeder Probe eine kleine Menge festen Naptols und Schwefelsäure im Ueberschuss zugesetzt wird.

Um etwaigen Einwänden zu begegnen, prüfte Molisch noch die wichtigsten im nomalen Harne vorkommenden Stoffe auf ihr Verhalten zu Naphtol und Thymol: Harnstoff, Kreatin, Xanthin, Harnsäure, Allantoin, Hippursäure, Bernsteinsäure, Phenol, Brenzcatechin und Judican mit negativem Resultate.

Es schliesst daraus Molisch, dass das Eintreten beider Reaktionen im normalen Harne auf Zucker deutet und dass somit die Ansicht Brücke's, im normalen Harn komme Zucker vor, die richtige sei.

Er schlägt ferner vor, um den normalen Harn vom diabetischen zu unterscheiden, beide auf das 100fache ihres Volumens zu verdünnen und die Probe anzustellen. Färbt sich dabei der fragliche Harn auffallend stärker

violett als der normale, so ist derselbe als diabetisch anzusehen. Weiter wird der zu untersuchende Harn auf das 400—600fache seines Volumens mit Wasser verdünnt: diabetischer Harn gibt selbst in dieser kolossalen Verdünnung noch sehr deutlich die Reaktion, während normaler Harn mit dem 400fachen Volumen Wasser versetzt die Reaktion nicht mehr gibt.

Bei der Wichtigkeit des Gegenstandes schien es eine nicht undankbare Aufgabe zu sein, jene angegebenen Proben auf ihren Werth zu prüfen; gelingt es doch eventuell durch dieselben, die häufig diskutirte Frage von dem Vorhandensein des Zuckers im normalen menschlichen Harn ein für allemal zu entscheiden und zu gleicher Zeit eine enorm scharfe Probe für den Nachweis geringster Mengen von Traubenzucker im diabetischen und zu gleicher Zeit natürlich auch im normalen Harne mit Leichtigkeit aufzuweisen.

Zuerst wurden die Angaben des Autors bezüglich des normalen und des zuckerhaltigen Harn und später das Verhalten einer grösseren Anzahl von chemischen Verbindungen, welche im Harne vorkommen können, gegen Naphtol- und Thymollösung geprüft.

Wir stellten uns zur weiteren Aufgabe, zu untersuchen, ob jene Körper, welche eventuell jene Reaktion geben, auch im Destillate des Harns nach Zusatz von Schwefelsäure oder Kalilauge gefunden werden können. Auch interessirte es uns, zu erfahren, ob der Harn nach der Filtration durch Kalilauge die Reaktion noch gibt, ob jene die Reaktion gebenden Körper in Aether, Chloroform, Alkohol, Amylalcohol, Benzol löslich sind, und ob ferner nach vollständiger Ausfällung des Zuckers im Harn die Reaktion noch auftritt. Das benützte α-Naphtol und das Thymol wurden von der chemischen Fabrik von Kahl-

baum in Berlin bezogen und wurden die genannten Präparate als absolut rein bezeichnet.

Zuerst wurden Untersuchungen angestellt, ob die Angaben von Molisch bezüglich der Schärfe der Reaktion und der Zuverlässigkeit derselben für den Nachweis der verschiedenen Zuckerarten richtig seien. Bei einer grösseren Anzahl von Versuchen zeigte sich, dass der normale Harn die angegebene Reaktion sehr deutlich und sehr scharf gibt und dass bei der hochgradigen Verdünnung von 1% Urin auf 300 Wasser die Reaktion immer noch deutlich nachweisbar war. Nach Zusatz von Naphtol und Schwefelsäure färbte sich der Harn roth mit einem Stich ins Blaue. Dass nach Eintreten der Reaktion im normalen Harne bei späterer starker Verdünnung mit Wasser ein blaues Sediment, wie Molisch angibt, abgeschieden werde, konnte nicht bestätigt werden.

Die Färbung war stets die gleiche, niemals traten andere Farben auf, z. B. grün nach Zusatz der betreffenden Reagentien.

Demnach wäre die Reaktion, wenn sie allein auf Zucker zu beziehen wäre, eine ganz ausserordentlich scharfe und alle bisherigen Reaktionen übertreffende.

Wurde eine 1% Harntraubenzuckerlösung mit den betreffenden Reagentien versetzt, so erhielt man an der Grenze der Lösung und der Schwefelsäure erst eine grüne Färbung, die später in eine rothe und blaurothe Farbe beim Schütteln überging.

Bei 500facher Verdünnung hörte die Reaktion auf, so dass wir auch nach dieser Richtung andere Resultate als Molisch erhielten, der ja bei viel stärkerer Verdünnung noch ein positives Resultat erzielte.

Wurde normaler Harn durch Kohle filtrirt, bis das Filtrat vollständig farblos erschien, so war das Resultat ebenfalls noch positiv, woraus hervorgeht, dass der be-

treffende, die Reaktion gebende Körper nicht durch Kohle zurückgehalten wird, während wir dies in Bezug auf geringe Zuckermengen wissen.

Um nun zu konstatiren, ob der betreffende Körper mit den Wasserdämpfen flüchtig sei, und so von vornherein nachzuweisen, dass die Reaktion nicht allein durch Zucker bedingt ist, sondern dass noch andere im Harn vorhandene Körper, die wir bisher nicht kennen, die Reaktion geben, wurde der Harn für sich, ferner eine andere Portion nach Zusatz von Kalilauge und eine dritte nach Zusatz von Schwefelsäure destillirt: alle drei Destillate zeigten nach Zusatz von Naphtol und Schwefelsäure eine Färbung; das erste und dritte Destillat eine Grünfärbung, das zweite eine Rothfärbung.

Mit Trauben- und Milchzucker wurden nun jene Reaktionen angestellt und es zeigte sich, dass, wenn man genau nach Molisch verfährt, man stets zuerst eine deutliche Grünfärbung und später erst rothe ev. blaue Färbung auftritt.

Um ganz sicher zu gehen, wurde rein destillirtes Wasser mit Naphtol und Schwefelsäure versetzt. Auch hierbei trat bereits Grünfärbung ein, so dass diese Farbe jedenfalls für den Zuckernachweis nicht verwertet werden kann. Diese Grünfärbung trat besonders schön und deutlich auf, wenn grössere Mengen von Naphtol verwendet wurden, woraus sich auch erklärt, warum im Harn, wenn genau nach der Methode von Molisch verfahren wurde und man nur ganz geringe Quantitäten von Naphtol benutzte, die Grünfärbung ausblieb.

Da nun auch im Harndestillate nach Zusatz von Schwefelsäure jene charakteristische Färbung eintrat, so geht daraus hervor, dass der Harn jedenfalls Körper enthält, welche die Reaktion ebenfalls geben, ohne etwas

mit Zucker zu thun zu haben, da der Zucker bekanntlich in den Wasserdämpfen nicht flüchtig ist.

Wohl wäre aber etwa anzunehmen, dass bei der Erhitzung des Harns mit Schwefelsäure geringe Mengen von im Harn befindlichem Zucker zersetzt werden und hiebei sich flüchtige Stoffe bilden (Aldehyde), welche die Reaktion ebenfalls geben.

Die Reaktion ist nämlich, wie dies schon früher von v. Bayer betont wurde, eine Aldehydreaktion. Um nun eine Zersetzung etwaiger im normalen Harn ev. vorhandener Zuckermengen zu verhüten, wurde der Harn auf dem Wasserbade bei niedriger Temperatur abgedampft und der Rückstand mit verschiedenen Lösungsmitteln behandelt, von denen wir wissen, dass die verschiedenen Zuckerarten darin nicht löslich sind. Es zeigte sich nun, dass nach der Behandlung des Rückstandes mit Aether, Chloroform und Benzol, nach Verdampfung der betreffenden Lösungsmittel in dem mit Wasser aufgenommenen Rückstand ebenfalls die Reaktion noch vorhanden war. Da nur die Aldehyde flüchtig sind, so müssen ausser Zucker und aldehydartigen Körpern auch noch andere Stoffe vorhanden sein, die die Reaktion geben, und es wäre demnach dieselbe für den sicheren Nachweis von Zucker im Harn nicht zu empfehlen.

Gerechte Bedenken mussten sich im vornherein schon gegen die Annahme geltend machen, dass jeder normale Harn Zucker enthalte, da von verschiedenen Autoren durch sorgfältige, darauf bezügliche Untersuchungen selbst bei der Verarbeitung grösserer Mengen von Urin Zucker nicht nachgewiesen werden konnte.

In Uebereinstimmung mit Molisch fanden wir allerdings eine grössere Anzahl von im Harne vorkommenden, bekannteren Körpern: Harnstoff, Harnsäure, Phenol, Kreatin, anorganische Salze, die die Reaktion nicht gaben,

doch gibt es sicherlich im Harn noch eine grössere Anzahl von Körpern, welche wir vorläufig nicht kennen, wie dieses ja neuerdings wieder durch verschiedene interessante chemische Reaktionen (Ehrlich) mit Sicherheit constatirt worden ist, welche vielleicht dem Zucker oder Derivaten desselben verwandt, die Reaktion von Molisch geben. Auch Ameisensäure, Aldehyd und verschiedene andere Körper, deren Gegenwart im Harn nicht ausgeschlossen ist, geben auch bei Verwendung von nur ganz kleinen Naphtolmengen eine exquisit grüne Färbung, wie wir sie bei Beginn der Reaktion bei verschiedenen Zuckerarten beobachteten. Doch kann das Auftreten jener Grünfärbung nicht massgebend sein, da, wie oben schon hervorgehoben, auch Naphtol mit Schwefelsäure eine schwache grüne Färbung gibt.

Was wir bei der Naphtolreaktion fanden, zeigte sich auch bei Anwendung von Thymol, nur dass das letztere die Reaktion etwas schwächer machte als erstere.

Mithin dürfte die von Molisch angegebene, sogenannte Zuckerreaktion für den Nachweis des Zuckers kaum zu verwenden sein.

Immerhin aber wäre es interessant, durch neu anzustellende, möglichst variirte Experimente herauszufinden, welche chemischen Verbindungen noch im Harn sind, die selbst in so starker Verdünnung die Reaktion noch geben, was für spätere Untersuchungen vorbehalten bleibt.

Zum Schluss ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Fleischer, meinem hochverehrten Lehrer, für Ueberweisung der Arbeit sowie freundliche Unterstützung bei der Abfassung derselben meinen innigsten Dank auszusprechen.